

**BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

**PRIORITY DOCUMENT**  
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
 COMPLIANCE WITH  
 RULE 17.1(a) OR (b)



4

- 5-00-0635

**Bescheinigung**

Frau Magdalena R a d t k e in Berlin/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Verfahren zur schonenden Herstellung von hochfeinen  
 Mikropartikeln und Nanopartikeln"

am 13. Juli 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die Anmeldung ist auf die PharmaSol, GmbH in Berlin/Deutschland umgeschrieben worden.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole C 08 J und A 61 K der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 17. Mai 2000

**Deutsches Patent- und Markenamt**

**Der Präsident**

Im Auftrag

Ernstsky

# UEXKÜLL & STOLBERG

PATENTANWÄLTE

BESELERSTRASSE 4  
D-22607 HAMBURG

EUROPEAN PATENT ATTORNEYS  
EUROPEAN TRADEMARK ATTORNEYS

DR. ULRICH GRAF STOLBERG (-1998)  
DPL.-ING. JURGEN SUCHANTKE  
DPL.-ING. ARNOLF HUBER  
DR. ALLARD von KAMEKE  
DPL.-BIOL. INGEBORG VOELKEP  
DR. PETER FRANCK  
DR. GEORG BOTH  
DR. ULRICH-MARIA GROSS  
DR. HELMUT von REESCH  
DR. JOHANNES AHME  
DR. HENZ-PETER MUTH  
DPL.-ING. LARS MANKE  
DR. MARTIN WEBER-GUITZAU  
DR. BERND JANSSEN  
DR. ALBRECHT von MENGES

Magdalena Radtke  
Halemweg 43  
13627 Berlin

(P 51205 vH)  
13. Juli 1999

## Verfahren zur schonenden Herstellung von hochfeinen Mikropartikeln und Nanopartikeln

Die Erfindung betrifft hochfeine Mikropartikel und Nanopartikel und ein Verfahren zu ihrer schonenden Herstellung unter Ausschluß von Wasser bzw. Minimierung von Wasser und/oder Ausschluß von Weichmachern und/oder reduzierter Temperaturbelastung.

### Hintergrund der Erfindung

Entsprechend ihrer Zusammensetzung lassen sich Mikro- und Nanopartikel in drei große Gruppen einteilen, und zwar Partikel aus:

- I. reinem Arzneistoff,
- II. reinem Matrixmaterial (z.B. Polymere, natürliche Makromoleküle, Lipide),
- III. Wirkstoff-beladenem Matrixmaterial.

Partikelgrößen oberhalb von 10 µm sind leicht durch konventionelle Zerkleinerungstechniken zugänglich, z.B. Mahlen mit einer Mörsermühle, ggf. unter Stickstoffkühlung. Schwieriger ist es, hochfeine Partikel kleiner 10-20 µm und insbesondere Nanopartikel kleiner 1µm, insbesondere im Bereich von wenigen 100 nm, herzustellen.

Luftstrahlmahlung gibt Partikelverteilungen bis zu 25 µm (Peters, K., Nanosuspensions for the i.v. administration of poorly soluble drugs – stability during sterilization and long-term storage, 22<sup>nd</sup> Int.Symp.CRS, 1995, 2212); zusätzlich kann die Thermobelastung und die Exposition mit Sauerstoff die chemische Stabilität empfindlicher Wirkstoffe beeinträchtigen.

Naßmahlverfahren (List, P.H., Arzneiformenlehre, 3.Auflage, 1982, WVG, Stuttgart) in Wasser reduzieren bei entsprechender Kühlung zwar die Temperaturbelastung, sind jedoch für hydrolyseempfindliche Wirkstoffe ungeeignet.

Ein alternativer Herstellungsprozeß ist die Ausfällung der Partikel, z.B. zur Herstellung von Arzneistoffnanopartikeln (sog. Hydrosole) (Sucker, H., Hydrosole - eine Alternative für die parenterale Anwendung von schwer wasserlöslichen Wirkstoffen, in: Müller, R.H., Hildebrand, G.E., (Hrsg.), Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, 2.Auflage, 1998, WVG, Stuttgart). Nachteilig hierbei ist, daß in der Regel organische Lösungsmittel eingesetzt werden müssen (Restgehalt im Produkt). Zusätzlich ist problematisch, daß der Arzneistoff zumindest in einem Lösungsmittel löslich sein muß. Gleichzeitig muß dieses Lösungsmittel noch mit einem Nicht-Lösungsmittel mischbar sein, um die Partikel durch Zugabe des Lösungsmittels zum Nicht-Lösungsmittel nach Ostwald-Mier feindispers auszufällen. Die entstehenden Partikel müssen dann noch durch geschickte Wahl der stabilisierenden Tensidmischung am Partikelwachstum während des Ausfällprozesses gehindert und für die Langzeitlagerung stabilisiert werden.

El. Makris, *ibid.*, 1974, 17, 44-55, solvent composition: n-Heptane: Ethanol, 1:1, 40-50, Polyethylene Microparticles Prepared by Double

Stability, Pharm. Res., 1994, 11, 1479-1484), solvent deposition und die Phasenseparation (Speiser, P.P., Nanopartikel, in: Müller, R.H., Hildebrand, G.E., (Hrsg.), Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, 2. Auflage, 1998, WVG, Stuttgart, 339-357). Alle beinhalten jedoch in der Regel organische Lösungsmittel, zusätzlich ist der Kontakt mit Wasser unvermeidlich (Fahr, A., Kissel, T., Mikropartikel und Implantate: Arzneiformen zur parenteralen Applikation, in: Müller, R.H., Hildebrand, G.E., (Hrsg.), Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, 2. Auflage, 1998, WVG, Stuttgart, 243-259).

Als alternatives Verfahren zur Herstellung von Mikro- und Nanopartikeln über Partikelzerkleinerung unter Vermeidung organischer, toxikologisch bedenklicher Lösungsmittel wurde dann die Hochdruckhomogenisation eingesetzt. Das zu zerkleinernde Polymer (Müller, B.W., Verfahren zur Herstellung von Pseudolatices und Mikro- oder Nanopartikeln und diese enthaltenden pharmazeutischen Präparaten, EP 0 605 933 B1, 1998) oder der Arzneistoff (Liversidge, G.G. Surface modified drug nanoparticles, USA-A-5 145 684, 1991; Haynes, D.H., Phospholipid-coated microcrystals: injectable formulations of water-insoluble drugs, US-A-5 091 187, 1992; Westesen, K., Solid lipid particles, particles of bioactive agents and methods for the manufacture and use thereof, International Patent Application WO 94/20072, 1994) wird in Wasser aufgeschwemmt und dann die Suspension durch den Hochdruckhomogenisator gegeben. Nachteilig ist hier, daß bei allen Verfahren die zu zerkleinernden Partikel Wasser ausgesetzt sind. Insbesondere ist beschrieben, daß bei Polymeren noch die Temperatur zu erhöhen ist und gegebenenfalls ein toxikologisch unerwünschter Weichmacher zugesetzt werden muß, z.B. 0,3 - 10 % bei Ethylcellulose (Müller, B.W., Verfahren zur Herstellung von Pseudolatices und Mikro- oder Nanopartikeln und diese enthaltenden pharmazeutischen Präparaten, EP 0 605 933 B1, 1998). Auch werden Arzneistoffe aufgeschmolzen (Westesen, K., Solid lipid particles, particles of bioactive agents and methods for the

manufacture and use thereof, International Patent Application WO 94/20072, 1994), die neben der chemischen Stabilitätsbeeinträchtigung dann auch noch dazu neigen, nach der Homogenisation nicht wieder zu kristallisieren (Siekmann, B., Westesen, K., Preparation and physicochemical characterization of aqueous dispersions of coenzyme Q10 nanoparticles, Pharm. Res., 1995, 12, 201-208).

Somit besteht generell der Bedarf, für ein schonenderes Zerkleinerungsverfahren je nach Eigenschaften des zu homogenisierenden Materials:

- den Kontakt mit Wasser zu minimieren bzw. auszuschließen
- die Verwendung toxikologisch unerwünschter organischer Lösungsmittel wie Dichlormethan auszuschließen
- die Temperaturbelastung zu minimieren bzw. zu vermeiden
- den Zusatz von toxikologisch unerwünschten Additiven wie Weichmachern zu umgehen
- die Exposition mit Sauerstoff zu minimieren bzw. auszuschließen
- Aufschmelzen zu vermeiden und die zu prozessierenden Substanzen im festen Zustand zu behalten.

Die vorliegende Erfindung realisiert ein schonendes Zerkleinerungsverfahren durch Homogenisation, wobei je nach Eigenschaften der zu verarbeitenden Substanz ein oder mehrere dieser Parameter oder alle gleichzeitig erfüllt werden. Falls ein Parameter nicht unbedingt umgesetzt werden muß (z.B. Ausschluß von Sauerstoff ist nicht notwendig), so wird darauf aus Kostengründen verzichtet, um den Prozeß so kostengünstig wie möglich zu gestalten.

als - Formulierungen für schwer lösliche Arzneistoffe mit geringer Bioverfügbarkeit: I. Herstellung und Eigenschaften,

lastende statische Druck (z.B. Luftdruck) gleich oder kleiner als der Dampfdruck wird. Im Hochdruckhomogenisator strömt Flüssigkeit mit sehr hoher Geschwindigkeit, so daß der statische Druck unterhalb des Dampfdruckes von Wasser sinkt, dieses in den gasförmigen Zustand übergeht und Gasblasen bildet. Beim Kollabieren der Dampfblasen (z.B. beim Austritt aus dem Homogenisationsspalt) kommt es durch diese Implosion zu starken Schockwellen, die zur Partikelzerkleinerung führen. Die Zerkleinerung von Substanzen durch Hochdruckhomogenisation erfolgte daher bisher in Wasser und nicht in Flüssigkeiten mit einem geringeren Dampfdruck. Es wird sogar die Hochdruckhomogenisation bei erhöhter Temperatur (deutlich oberhalb Raumtemperatur, z.B. bei 60-90°C) empfohlen, da dann die Differenz zwischen statischem Druck (z.B. im Homogenisationsspalt) und Dampfdruck des Wassers leichter überwunden werden kann. Insbesondere wurde Homogenisation bei tieferen Temperaturen nicht durchgeführt, da dann aufgrund des bei niederen Temperaturen kleineren Dampfdruckes des Wassers die Differenz zwischen statischem Druck und Dampfdruck zunimmt und keine Kavitation auftritt. Insbesondere beim Zerkleinern von Polymeren wird sogar Temperaturerhöhung als nicht ausreichend für eine effektive Zerkleinerung beschrieben, es müssen Weichmacher den Polymeren zugesetzt werden (Müller, B.W., Verfahren zur Herstellung von Pseudolatices und Mikro- oder Nanopartikeln und diese enthaltenden pharmazeutischen Präparaten, EP 0 605 933 B1, 1998).

Im Gegensatz zur Verwendung von Wasser werden in der Erfindung nichtwäßrige Flüssigkeiten, insbesondere auch mit niedrigerem Dampfdruck (flüssige Polyethylenglykole, wasserfreies Glycerin), im Homogenisationsverfahren eingesetzt. Überraschenderweise zeigte sich, daß auch damit hochfeine Mikropartikel und Nanopartikel hergestellt werden konnten (Beispiele 1-6). Im Vergleich zu Partikeln, die in Wasser homogenisiert wurden, ergaben sich vernachlässigbare Unterschiede (Beispiel 3). Homogenisation in wasserfreien Medien wurde für reine Wirkstoffe (z.B. Arzneistoffe, kosmetische Wirkstoffe etc.), synthetische Polymere und

natürliche Makromoleküle sowie für Wirkstoff-beladene Polymere durchgeführt.

In Abhängigkeit vom Grad der Hydrolyseempfindlichkeit von Wirkstoffen können geringe Anteile von Wasser im Dispersionsmedium toleriert werden. So wurden dem Dispersionsmedium Anteile von Wasser zugesetzt, um dadurch die Einheitlichkeit der Partikeldispersion zu verbessern (Beispiel 7). Der mittlere Durchmesser der Partikeldispersion zeigt kaum Veränderung im Vergleich zu wasserfreiem Dispersionsmedium (Beispiel 6). Es sinkt jedoch leicht der Durchmesser 95%, der ein Maß für die Anwesenheit weniger größerer Partikel neben der Hauptpopulation der Teilchen ist (Beispiel 13). Unabhängig davon sind gewisse Wasseranteile oft in der Weiterverarbeitung der Partikeldispersion erwünscht (z.B. in PEG 400 bei Abfüllung in Weichgelatine-kapseln sollte das PEG einen gewissen Feuchtmacheranteil enthalten, damit der Gelatine-Kapselwand selbst kein Wasser entzogen wird und dadurch die Kapsel spröde wird). Voraussetzung hierfür ist jedoch zumindest eine geringe Löslichkeit von Wasser im Dispersionsmedium bzw. Mischbarkeit. Zugesezte Wasseranteile waren z.B. 1%, 5% und 10% (z.B. Beispiel 7). Überraschenderweise hatten diese Wasseranteile - entgegen den theoretischen Überlegungen - keinen die Zerkleinerung erhöhenden Einfluß (wenig Änderung im Durchmesser 50%).

Es wurden auch höhere Wasseranteile eingesetzt (maximal eingesetzte Wassermengen waren 80% bzw. 99%), wobei sich die Partikelgröße im Vergleich zum wasserfreien Medium unwesentlich bzw. nicht verkleinerte (z.B. Beispiele 7 und 8). Für die meisten Produkte sind derartige minimale Unterschiede für die Produktqua-

Vermeidung von Kapillarkollaps. Teilchen deutlich unterhalb der kleinsten Größe von Kapillaren von 5-6  $\mu$ m bleibt. Diese Ergeb-

nisse bestätigen, daß eine äußere Wasserphase zur Erzielung eines Produktes mit ausreichender Feinheit nicht notwendig ist.

Der Anteil an Mikropartikeln mit einer Größe deutlich oberhalb des mittleren Durchmessers 50% ist eine Funktion der Anzahl der Homogenisationszyklen. Er sinkt (d.h. der D95% bzw. D90% als Maß für diesen Anteil wird kleiner) mit steigender Zahl der Zyklen (Beispiel 13). Zur Reduzierung des Anteils an Mikropartikeln - z.B. im Hinblick auf i.v. Applikation - kann generell die Zahl der Zyklen erhöht werden, so daß auch hierfür ein Wasserzusatz zum Dispersionsmedium nicht erforderlich ist.

Ein die Stabilität von Wirkstoffen noch nicht beeinträchtigender Wasserzusatz ist auch dann sinnvoll, wenn in diesem Wasser Substanzen oder Polymere gelöst werden, die im nichtwäßrigen Lösungsmittel nicht oder nicht ausreichend löslich sind, aber für die Endformulierung erwünscht sind. Beispiele sind Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) als Gerüstbildner oder PEG 6000 als Formtrennmittel, wenn die Mikro- oder Nanopartikeldispersion in eine trockene Formulierung wie Tablette oder Pellet überführt werden soll. Sinnvoll sind ebenfalls Gelbildner für die nachträgliche Herstellung von Gelen, z.B. Miglyolgel (Lösung von Aerosil mit geringem Wasseranteil zur Förderung der Gelbildung im Öl über Hydroxylgruppen des Wassers).

Zur Untersuchung des Einflusses eines Weichmachers wurde vergleichbar zu Müller, B.W., Verfahren zur Herstellung von Pseudolatices und Mikro- oder Nanopartikeln und diese enthaltenden pharmazeutischen Präparaten, EP 0 605 933 B1, 1998 Ethylcellulose unter Zusatz von 1,74 % (m/m bezogen auf das Polymer) Weichmacher bei erhöhter Temperatur homogenisiert und verglichen mit einer ohne Weichmacherzusatz hergestellten Mikropartikel-Suspension (Beispiel 9). Die Unterschiede in der Teilchengrößen waren gering bzw. die Weichmacher-freie Dispersion zeigte sogar überraschenderweise geringere Partikelgrößen, so daß auf



toxikologisch unerwünschte Weichmacher - entgegen den Erwartungen aufgrund der Literatur - verzichtet werden kann.

Für Polymere wie Ethylcellulose (Müller, B.W., Verfahren zur Herstellung von Pseudolatices und Mikro- oder Nanopartikeln und diese enthaltenden pharmazeutischen Präparaten, EP 0 605 933 B1, 1998) soll Homogenisation bei höheren Temperaturen zu kleineren Teilchen führen. Dies basiert auf den theoretischen Überlegungen, daß die Differenz zwischen statischem Druck im Homogenisator und dem Dampfdruck des Dispersionsmediums geringer ist und man sich dem Erweichungspunkt von Polymeren annähert. Ethylcellulose wurde daher bei verschiedenen Temperaturen homogenisiert und die Teilchengrößen verglichen (Beispiel 10). Die Unterschiede waren minimal und für die Produktqualität in der Regel nicht relevant. Somit kann für diese Substanzen ohne Verlust in der produktrelevanten Qualität bzgl. Partikelgröße anstatt bei 85°C auch bei 40-60° C oder leicht oberhalb bzw. bei Raumtemperatur (20° C) gearbeitet werden.

Bei der Hochdruckhomogenisation kommt es zur Dissipation von Strömungsenergie in Wärme (Jahnke, S., Theorie der Hochdruckhomogenisation, Workshop Dispergiertechnik, 4<sup>th</sup> Expert Meeting, cdc 1999), das Produkt erwärmt sich (z.B. pro Zyklus um ca. 10-20°C beim LAB 40, APV Deutschland GmbH, Lübeck, Germany). Bei sehr temperaturempfindlichen Substanzen sollte diese Wärme nicht erst im Produktcontainer dem Produkt entzogen werden sondern vorzugsweise bereits im Homogenisationsturm während des Zerkleinerungsprozesses. Die Prozeßführung erfolgt in diesen Fällen bei abgesenkter Temperatur (Beispiel 14), d.h. unter Kühlung bei 4°C oder auch deutlich unter 0°C, z.B. bei -20° oder -50°C, was nur

Einrichtungen wie generell in Tiermischungen teilweise ausreichend effektiv zur Herstellung von hochfeinen Partikeldispersionen. Weitere

oder durch Erhitzen) und zusätzlich Schutzbegasung (z.B. mit Stickstoff) (Beispiel 16).

### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Die in hochfeine Mikropartikel oder Nanopartikel zu überführende Substanz (z.B. Wirkstoffe, Polymere oder Wirkstoff-beladene Polymere) wird als Pulver unter Rühren in einem flüssigen Medium (Dispersionsmedium) zur Herstellung einer Prä-Suspension dispergiert. Dispergierung kann mit Rührern unterschiedlicher Bauart erfolgen, z.B. Propellerrührer, Rotor-Stator-Rührer (Ultra-Turrax), Zahnscheiben. Alternativ kann die gepulverte Substanz auch angerieben werden, z.B. in einer Mörsermühle. Der Substanz in der Mörsermühle wird sukzessive Dispersionsmedium unter Rühren zugesetzt.

Als Dispersionsmedien können alle Flüssigkeiten außer Wasser mit ausreichend niedriger Viskosität eingesetzt werden, z.B.

Polyole wie z.B. Glycerin, Polyethylenglykole (PEG) (z.B. PEG 400 und PEG 600), Polyether- und Polyesterpolyole, Glykole wie z.B. Propylenglykol, Ethylenglykol,

Öle wie z.B. mittelkettige Triglyceride (MCT) (z.B. Miglyole), langkettige Triglyceride (LCT) wie z.B. Isopropylmyristat, pflanzliche Öle wie Avocadoöl, Baumwollsaamenöl, Distelöl, Erdnußöl, Jojobaöl, Kokosnußöl, Leinöl, Nußöl, Olivenöl, Palmkernöl, Sesamöl, Sojabohnenöl, Rizinusöl, Weizenkeimöl, tierische Öle wie Lebertran, Heilbuttleberöl, Rinderklauenöl,

flüssige Kohlenwasserstoffe wie z.B. dünnflüssiges Paraffin, dickflüssiges Paraffin und Hexan

Alkohole wie Methanol, Ethanol, 1-Propanol, Isopropanol, n-Butanol, 2-Butanol, Pentanol, Hexanol, Octanol, Decanol, Allylalkohol, Propargylalkohol.

Falls für das Endprodukt wünschenswert, kann dem Dispersionsmedium ein Wasseranteil zugemischt werden (z.B. Wasserzusatz zu PEG 400 im Hinblick auf eine spätere Befüllung von Weichgelatine-kapseln). Die Wasseranteile bewegen sich in der Regel im Bereich von 1 bis 10%, es können aber auch höhere Anteile verwendet werden. Limitierender Faktor ist hierbei die chemische Stabilität der zu homogenisierenden Substanz. Höhere Anteile von Wasser haben zwar keinen oder wenig Effekt auf den mittleren Durchmesser der hergestellten Partikeldispersion, es wird jedoch der Anteil an größeren Partikeln zusätzlich minimiert. Der Durchmesser 95% sinkt in der Regel leicht. Für viele Produkte ist dies von keiner Relevanz. Interessant ist es jedoch bei der Herstellung von Nanopartikeldispersionen zur intravenösen Injektion. Verbleiben zu viele Partikel größer als 5 µm im Produkt, so kann dies zu Kapillarblockade führen.

Im Wasseranteil können auch Substanzen wie HPMC, PEG 6000 oder Aerosil aufgelöst werden, wenn dies für die angestrebte Endformulierung wünschenswert ist, zu der die Mikro- und Nanopartikeldispersionen verarbeitet werden sollen. Insbesondere sind diese bezüglich der Tablettenherstellung z.B. Calciumphosphate, Lactose, Stärke und ihre Derivate wie Stärkenhydrolysate, Cellulosen, Cellulosederivate, Polyethylenglykole, Polyvinylpyrrolidon (PVP), Hexite, Glucose; bezüglich der Salbenherstellung kommen Substanzen wie Bentonit, Aerosil, Celluloseether, Celluloseester, Alginate, Pectinate, Traganth, Polyvinylalkohol, Polyethylenglykole, Gummi arabicum, Polyacrylate, Paraffin, Polymethacrylate, Vaseline, Plastibase in Betracht; und bezüglich der Verarbeitung in Kapseln sind z.B. Polyethylenglykole, Paraffin, flüssige Triglyceride (pflanzlich

ten Mikro- und Nanopartikel können dem Dispersionsmedium stabilisierende Substanzen zugesetzt werden. Beispiele dafür

1. sterisch stabilisierende Substanzen wie Poloxamere und Poloxamine (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Block-Copolymere), ethoxylierte Sorbitanfettsäure-Ester, besonders Polysorbate (z.B. Polysorbat 80 bzw. Tween 80®), ethoxylierte Mono- und Diglyceride, ethoxylierte Lipide, ethoxylierte Fettalkohole oder Fettsäuren, und Ester und Ether von Zuckern oder von Zuckeralkoholen mit Fettsäuren oder Fettalkoholen (z.B. Saccharose-stearat, Saccharose-distearat, Saccharose-laurat, Saccharose-octanoat, Saccharose-palmitat, Saccharose-myristat).
2. geladene ionische Stabilisatoren so wie Diacetylphosphate, Phosphatidylglycerin, Lecithine unterschiedlicher Herkunft (z.B. Eilecithin oder Sojalecithin), chemisch modifizierte Lecithine (z.B. hydrierte Lecithine), genauso wie Phospholipide und Sphingolipide, Mischung von Lecithinen mit Phospholipiden, Sterolen (z.B. Cholesterol und Cholesterol-Derivate, genauso wie Stigmasterin) und ebenfalls gesättigte und ungesättigte Fettsäuren, Natriumcholat, Natriumglycocholat, Natriumtaurocholat, Natriumdeoxycholat oder ihrer Mischungen, Aminosäuren oder Anti-Flokkulantien, wie z.B. Natriumcitrat, Natriumpyrophosphat, Natriumsorbat [Luck, J.S. et al. Int. J. Pharm., 1990, 58, 229 - 235]. Zwitterionische Tenside wie z.B. (3-[(3-cholamidopropyl)-dimethylammonio]-2-hydroxy-1-propanesulfonate) [CHAPSO], (3-[(3-cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propanesulfonate) [CHAPS] und N-dodecyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonat. Kationische Tenside, insbesondere als Konservierungsmittel eingesetzte Verbindungen, wie z.B. Benzyltrimethylhexadecylammoniumchlorid, Methylbenzethoniumchlorid, Benzalkoniumchlorid, Cetylpyridiniumchlorid.

Die im Prozeß zur Herstellung von hochfeinen Mikropartikeln und Nanopartikeln einsetzbaren Substanzen sind

1. Reinsubstanzen (z.B. Wirkstoffe im pharmazeutischen und kosmetischen Bereich)
2. Polymere
3. Wirkstoff-beladene Polymere

Die Reinsubstanzen beschränken sich nicht nur auf z.B. Wirkstoffe im pharmazeutischen und kosmetischen Bereich sondern stammen aus sehr unterschiedlichen Bereichen (z.B. Agrarwirtschaft, Nahrungsmittel). Im Agrarbereich sind eine Reihe von Pestiziden instabil in Wasser. Sie werden daher in der Ölphase einer Emulsion gelöst und diese hoch konzentriert hergestellt, um den Wasseranteil zu minimieren. Trotzdem ist die Lagerfähigkeit beschränkt. Mit vorliegendem Verfahren können chemisch labile Pestizide in einem wasserfreien Verfahren schonend in feine Nanopartikeldispersionen überführt werden, die dann auf Pflanzen aufgebracht werden können. Hier bietet sich bevorzugt die Homogenisation in mit Wasser mischbaren Dispersionsmedien an, z.B. PEG 400. Vor dem Versprühen mischt man die in PEG dispergierten Nanopartikel Wasser zu und versprüht mit konventionellen Sprühgeräten.

Im Nahrungsmittelbereich kommen beispielsweise Geschmacksverstärker als Wirkstoffe in Frage.

Ferner sind auch Holzschutz- oder Pflegemittel als Wirkstoffe von Interesse.

Im pharmazeutischen Bereich sind vor allem Wirkstoffe interessant, die eine zu geringe Bioverfügbarkeit haben und/oder in Wasser chemisch instabil sind. Ein klassisches Beispiel ist Cyclosporin, das bisher als Mikroemulsion (kritische Lösung) auf

geschwindigkeit und damit die Bioverfügbarkeit im Vergleich zum pulverisierten Wirkstoff, gleichzeitig vermeidet man die schnelle

HIV-wirksame Substanz Azodicarbonamid (ADA). Überführung von ADA in Nanopartikel unter Verwendung von Wasser als Dispersionsmedium führt zu einer schaumigen Dispersion. Der gebildete Mikroschaum bleibt über mehrere Wochen stabil, das schaumige Produkt ist so nicht weiterverarbeitbar.

In dieser Erfindung zu verarbeitende Arzneistoffe sind z.B. aus den therapeutischen Gruppen:

#### Analgetika/Antirheumatika

BTM Basen wie Morphin, Codein, Piritamid, Fentanyl und Fentanyl-derivate, Levomethadon, Tramadol, Diclofenac, Ibuprofen, Indometacin, Naproxen, Piroxicam, Penicillamin

#### Antiallergika

Pheniramin, Dimetinden, Terfenadin, Astemizol, Loratidin, Doxylamin, Meclozin, Bamipin, Clemastin

#### Antibiotika/Chemotherapeutika

hiervon: Polypeptidantibiotika wie Colistin, Polymyxin B, Teicoplanin, Vancomycin; Malariamittel wie Chinin, Halofantrin, Mefloquin, Chloroquin, Virustatika wie Ganciclovir, Foscarnet, Zidovudin, Aciclovir und andere wie Dapson, Fosfomycin, Fusafungin, Trimetoprim

#### Antiepileptika

Phenytoin, Mesuximid, Ethosuximid, Primidon, Phenobarbital, Valproinsäure, Carbamazepin, Clonazepam

#### Antimykotika

##### a) intern:

Nystatin, Natamycin, Amphotericin B, Flucytosin, Miconazol, Fluconazol, Itraconazol

##### b) extern außerdem:

Clotrimazol, Econazol, Tioconazol, Fenticonazol, Bifonazol, Oxiconazol, Ketoconazol, Isoconazol, Tolnaftat

## Dermatika

a) Antibiotika:

b) Virustatika wie oben, außerdem:

c) Corticoide wie oben, außerdem:

## Diagnostika

b) hochsubstituierte Iodhaltige Verbindungen wie z.B. Lipide

## Blutgerinnungsfaktoren VIII, IX

Formazinam, Flunitrazepam, Fenazepam, Bromazepam, Temazepam,  
Lorazepam

## Hypophysen-, Hypothalamushormone, regulatorische Peptide und ihre Hemmstoffe

Corticotrophin, Tetracosactid, Choriongonadotropin, Urofollitropin, Urogonadotropin, Somatropin, Metergolin, Bromocriptin, Terlipressin, Desmopressin, Oxytocin, Argipressin, Ornipressin, Leuprorelin, Triptorelin, Gonadorelin, Busere-  
lin, Nafarelin, Goselerin, Somatostatin

## Immuntherapeutika und Zytokine

Dimepranol-4-acetamidobenzoat, Thymopentin,  $\alpha$ -Interferon,  $\beta$ -Interferon,  $\gamma$ -Interferon, Filgrastim, Interleukine, Azathioprin, Ciclosporine

## Lokalanaesthetika

intern:

Butanilicain, Mepivacain, Bupivacain, Etidocain, Lidocain, Articain, Prilocain,

extern außerdem:

Propipocain, Oxybuprocain, Tetracain, Benzocain

## Migränemittel

Proxibarbal, Lisurid, Methysergid, Dihydroergotamin, Clonidin, Ergotamin, Pizotifen

## Narkosemittel

Methohexital, Propofol, Etomidat, Ketamin, Alfentanil, Thiopental, Droperidol, Fentanyl

## Nebenschilddrüsenhormone, Calciumstoffwechselregulatoren

Dihydratachysterol, Calcitonin, Clodronsäure, Etidronsäure

## Ophthalmika

Atropin, Cycloclin, Cyclopentolat, Homatropin, Tropicamid, Scopolamin, Pholedrin, Edoxudin, Idouridin, Tromantadin, Aciclovir, Acetazolamid, Diclofenamid, Carteolol, Timolol,



Metipranolol, Betaxolol, Pindolol, Befunolol, Bupranolol,  
Levobunolol, Carbachol, Pilocarpin, Clonidin, Neostigmin

#### Psychopharmaka

Benzodiazepine (Lorazepam, Diazepam), Clomethiazol

#### Schilddrüsentherapeutika

l-Thyroxin, Carbimazol, Thiamazol, Propylthiouracil

#### Sera, Immunglobuline, Impfstoffe

- a) Immunglobuline allgemein und spezifisch wie Hepatitis-Typen, Röteln, Cytomegalie, Tollwut, FSME, Varicella-Zoster, Tetanus, Rhesusfaktoren
- b) Immunsera wie Botulismus-Antitoxin, Diphtherie, Gasbrand, Schlangengift, Skorpiongift
- c) Impfstoffe wie Influenza, Tuberkulose, Cholera, Diphtherie, Hepatitis-Typen, FSME, Röteln, Häemophilus influenzae, Masern, Neisseria, Mumps, Poliomyelitis, Tetanus, Tollwut, Typhus

#### Sexualhormone und ihre Hemmstoffe

Anabolika, Androgene, Antiandrogene, Gestagene, Estrogene, Antiestrogene (Tamoxifen etc.)

#### Zystostatika und Metastasenhemmer

- a) Alkylantien wie Nimustin, Melphalan, Carmustin, Lomustin, Cyclophosphamid, Ifosfamid, Trofosfamid, Chlorambucil, Busulfan, Treosulfan, Prednimustin, Thiotepa
- b) Antimetabolite wie Cytarabin, Fluorouracil, Methotrexat, Mercaptopurin, Tioguanin

mycin, Plitamylin

- e) Komplexe von Nebengruppenelementen (z.B. Ti, Zr, V, Nb, Ta, Mo, W, Ru, Pt) wie Carboplatin, Cisplatin und Metallo-locenverbindungen wie Titanocendichlorid
- f) Amsacrin, Dacarbazin, Estramustin, Etoposid, Hydroxycarbamid, Mitoxanthron, Procarbazin, Temiposid
- g) Alkylamidophospholipide (beschrieben in J.M. Zeidler, F. Emling, W. Zimmermann und H.J. Roth, Archiv der Pharmazie, 324 (1991), 687)
- h) Etherlipide wie Hexadecylphosphocholin, Ilmofosin und Analoga, beschrieben in R. Zeisig, D. Arndt und H. Brachwitz, Pharmazie 45 (1990), 809-818.
- i) Taxane wie z.B. Paclitaxel

Peptid- und Proteinwirkstoffe, insbesondere auch rekombinante Peptide und Proteine, wie z.B. Cyclosporin, LH-RH-Analoga, Follikel-stimulierendes Hormon (FSH), Gonadotropin Releasing Hormon Antagonist (GnRHA), Humanes Choriogonadotropin (hCG), Wachstumshormon-Releasing Faktor (GRF), Humanes Wachstumshormon (hGH), Interferon-beta 1a, Humanes Tumornekrosefaktor-bindendes Protein (hTBP), Humanes Interleukin-6 (hIL6), Lymphozyten-aktivierungsgen 3, Typ 1 Interferon Rezeptor

Generell können allgemein Wirkstoffe aus folgenden chemischen Gruppen verwendet werden.

- hydroxylierte Kohlenwasserstoffe
- Carbonylverbindungen wie Ketone (z.B. Haloperidol), Monosaccharide, Disaccharide und Aminosucker
- Carbonsäuren wie aliphatische Carbonsäuren, Ester aliphatischer und aromatischer Carbonsäuren, basisch substituierte Ester aliphatischer und aromatischer Carbonsäuren (z.B. Atropin, Scopolamin), Lactone (z.B. Erythromycin), Amide und Imide aliphatischer Carbonsäuren, Aminosäuren, aliphatische Aminocarbonsäuren, Peptide (z.B. Ciclosporin), Polypeptide,  $\beta$ -Lactamderivate, Penicilline, Cephalosporine, aromatische Carbonsäuren (z.B. Acetylsalicylsäure), Amide aromatischer

Carbonsäuren, vinyloge Carbonsäuren und vinyloge Carbonsäureester

- Kohlendensäurederivate wie Urethane und Thiourethane, Harnstoff und Harnstoffderivate, Guanidinderivate, Hydantoine, Barbitursäurederivate und Thiobarbitursäurederivate
- Nitroverbindungen wie aromatische Nitroverbindungen und heteroaromatische Nitroverbindungen
- Amine wie aliphatische Amine, Aminoglykoside, Phenylalkylamine, Ephedrinderivate, Hydroxyphenylethanolamine, Adrenalinderivate, Amfetaminderivate, aromatische Amine und Derivate, quartäre Ammoniumverbindungen
- schwefelhaltige Verbindungen wie Thiole und Disulfane
- Sulfone, Sulfonsäureester und Sulfonsäureamide
- Polycarbocyclen wie Tetracycline, Steroide mit aromatischem Ring A, Steroide mit alpha, beta-ungesättigter Carbonylfunktion im Ring A und alpha Ketol-Gruppe (oder Methylketo-Gruppe) am C 17, Steroide mit einem Butenolid-Ring am C 17, Steroide mit einem Pentadienolid-Ring am C 17 und Secosteroide
- O-haltige Heterocyclen wie Chromanderivate (z.B. Cromoglicinsäure)
- N-haltige Heterocyclen wie Pyrazolderivate (z.B. Propyphenazon, Phenylbutazon)
- Imidazolderivate (z.B. Histamin, Pilocarpin), Pyridinderivate (z.B. Pyridoxin, Nicotinsäure), Pyrimidinderivate (z.B. Trimetoprim), Indolderivate (z.B. Indometacin), Lysergsäurederivate (z.B. Ergotamin), Yohimbinderivate, Pyrrolidinderivate, Purinderivate (z.B. Allopurinol), Xanthinderivate, 8-Hydroxychinolinderivate, Amino-hydroxy-alkylierte Chinoline, Aminochinoline, Isochinolinderivate (z.B. Morphin, Codein), Chinolinderivate, Isochinolinderivate, Naphthalinderivate, Benzimidazolderivate und Benzoxazepinderivate (z.B. Trimipramin)
- S-haltige Heterocyclen wie Thioxantheninderivate

- N,O- und N,S-haltige Heterocyclen wie monocyclische N,O-haltige Heterocyclen, monocyclische N,S-haltige Heterocyclen, Thiadiazinderivate, bicyclische N,S-haltige Heterocyclen, Benzothiadiazinderivate, tricyclische N,S-haltige Heterocyclen und Phenothiazinderivate
- O,P,N-haltige Heterocyclen (z.B. Cyclophosphamid)

An Polymeren können synthetische, halbsynthetische sowie natürliche eingesetzt werden. Insbesondere kommen in Frage z.B.

Cellulosederivate wie Ethylcellulose, Methylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylcellulose, Natriumcarboxymethyl-cellulose, Methylhydroxypropylcellulose, Hydroxypropylmethylcelluloseacetatsuccinat, Carboxymethylcellulose, Celluloseacetatphthalat, Methylhydroxyethylcellulose,

natürliche Polymere wie Alginate, Albumin, insbesondere Serumalbumin, Humanalbumin und bovines Albumin, Schellack, Wachse, Bienenwachs, Glanz-wachse, Kollagen, Kasein, Fibrin, Bentonit, Tragant, Xanthane, Polysaccharide wie Chitin, Dextrane, Hyaluronsäure

synthetische Polymere wie Polyacrylate, Polymethacrylate, Polyvinyl-derivate Polyesterpolymere wie Polylactide, Polyglycolide und ihre Ko-Polymere, Polyanhydride, Polyphosphorester, Blockpolymere aus Polyethylenglycol und Polyestern, Polyhydroxybuttersäure, Polycyanoacrylate, Polycarbonate, Polycaprolacton.

In die Polymere können auch bereits vor der Homogenisation Wirkstoffe eingeschlossen sein, z.B. aus den oben genannten therapeutischen Gruppen und / oder chemischen Gruppen. Die Wirkstoffe können in den Polymeren z.B. gelöst, dispergiert, lösungsvermittelt oder auf andere Weise eingeschlossen sein.

Die Prä-Suspension wird dann z.B. in einem der folgenden Dispergiersysteme weiterverarbeitet: Hochdruckhomogenisatoren vom Typ des Kolben-Spalt-Homogenisators (APV Gaulin Systeme, French Press, Avestin), Jet-Stream-Homogenisatoren (z.B. Microfluidizer), Rotor-Stator-Systeme (Ultra-Turrax, Silverson-Homogenisatoren), Ultraschallbad, Ultraschallstab und Ultraschallhomogenisatoren.

Die hergestellte Prä-Suspension wird bei ca. 100 bar bis ca. 2000 bar unter Anwendung von einem, mehreren oder vielen Zyklen homogenisiert. Die anzuwendenden Drücke im Hochdruckhomogenisator und die Zahl der Zyklen sind eine Funktion von der gewünschten Feinheit der Partikel. In der Regel erfordert die Herstellung von Nanopartikeln höhere Drücke (z.B. 1000 bar oder darüber) und eine höhere Anzahl an Zyklen. Die Zahl der Zyklen hängt ebenfalls von der Leistungsfähigkeit des Homogenisators ab (z.B. 4 - 20 Zyklen bei APV Gaulin Maschinen, teilweise bis zu 50 bzw. mehreren hundert Zyklen beim Mikrofluidizer).

Die Charakterisierung der hochfeinen Mikropartikeldispersionen und Nanopartikel erfolgte mit Laser Diffraktometrie (LD) (Coulter LS230, Firma Coulter Electronics, Miami, USA) und mit Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) (Zetasizer 4, Malvern Instruments, Malvern, United Kingdom). Charakterisierungsparameter waren der LD-Durchmesser 50% (D50%), 90% (D90%) und 95% (D95%) der mit dem LD gemessenen. Die PCS (Meßbereich ca. 3nm - 3µm) ergibt den PCS-Durchmesser und als Maß für die Breite der Verteilung den Polydispersitätsindex (PI) im Bereich von 0,000 (= ideal monodispers) bis 0,500 (sehr breite Verteilung), oberhalb von 0,5 ist keine Aussage über die Breite der Verteilung möglich.

Verwendungswege Die Mischgröße für Partikel aus Polymeren liegt oft im Bereich weniger Mikrometer. Beispiele sind Dispersionen

beladene Polylactid-glycolidpartikel zur Aufnahme durch Makrophagen nach intraartikulärer Injektion (Zielgröße ca. 1-2  $\mu\text{m}$ ). Für schwerlösliche Arzneistoffe liegt die Zielgröße oft im Bereich ca. 1  $\mu\text{m}$  bzw. im Nanometerbereich, z.B. Azodicarbonamid. Durch entsprechende Wahl von Druck und Zyklenzahl läßt sich die Zielgröße im Produktionsprozeß kontrollieren.

#### Kurze Beschreibung der Abbildungen:

Abb. 1: LD-Durchmesser 50%, 90% und 95% der Mikropartikeldispersionen aus Beispiel 9 hergestellt mit Weichmacherzusatz (oben) und der erfindungsgemäßen Weichmacher-freien Dispersion (unten) als Funktion der Zahl der Homogenisationszyklen (2 bis 10 Zyklen, 1500 bar).

Abb. 2: LD-Durchmesser 50%, 90% und 95% der erfindungsgemäßen Weichmacher-freien Dispersion aus Beispiel 10 hergestellt bei unterschiedlichen Temperaturen (20°, 40°, 60° und 85° C).

Abb. 3: LD-Durchmesser 50%, 90% und 95% der Mikropartikeldispersionen aus Beispiel 11 mit Weichmacherzusatz (A) und der erfindungsgemäßen Weichmacher-freien Dispersion (0) hergestellt bei 20°C (links) und bei 40°C (rechts).

Abb. 4: Partikelgrößenverteilungskurven der Mikropartikeldispersion aus Beispiel 3 hergestellt durch Homogenisation in wasserfreiem Medium (WF) und zum Vergleich in Wasser (W).

#### Beispiele

##### Beispiel 1

Der Arzneistoff 1-[[2,7-bis(2,6-dimethyl-4-morpholinyl)-6-phenyl-4-pteridinyl]-(2-hydroxyethyl)-amino]-2-methyl-[cis[cis]]-propan-2-ol (1%) wurde in wasserfreiem Glycerol unter Zusatz von Tween

80 (0,5%) dispergiert und dann die erhaltene Prä-Dispersion in einem diskontinuierlichen Micron LAB40 hochdruckhomogenisiert (APV Deutschland GmbH, Lübeck, Germany). Produktionsparameter waren 2 Zyklen bei 150 bar, dann 2 Zyklen bei 500 bar und anschließend 6 Zyklen bei 1500 bar. Homogenisation erfolgte bei Raumtemperatur. Partikelgrößenanalytik, mit dem Laserdiffraktometer Coulter LS230 (Coulter Electronics, USA). Nach den 6 Zyklen mit 1500 bar betrug der D50% 1,7 µm, der D90% 4,5 µm und der D95% 5,4 µm.

#### Beispiel 2

Zur Herstellung von Nanopartikeln wurde der Arzneistoff aus Beispiel 1 wie dort beschrieben homogenisiert, wobei jedoch 20 Zyklen bei 1500 bar gefahren wurden. Der mit Photonenkorrelationsspektroskopie bestimmte mittlere PCS-Durchmesser betrug 950 nm, der PI 0,513.

#### Beispiel 3

Der Arzneistoff aus Beispiel 1 (1%) wurde in wasserfreiem Glycerol unter Zusatz von Tween 80 (0,5%) dispergiert und eine Mikropartikeldispersion wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt, jedoch mit 10 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert. Zum Vergleich wurde der Arzneistoff auch unter identischen Bedingungen in rein wässriger Dispersion homogenisiert (Ersatz von Glycerol durch Wasser). Die Durchmesser waren jeweils 1,3 µm und 0,9 µm (D50%), und 3,2 µm und 2,3 µm (D90%).

#### Beispiel 4

Das synthetische Polymer Eudragit RS PO (Polyacrylsäure-trimethylamino-ethylester., Röhm GmbH, Darmstadt, Germany) wurde in 10 g Wasser dispergiert und mit 0,5 g Tween 80 dispergiert.

Homogenisation erfolgte analog Beispiel 1 im diskontinuierlichen Micron LAB40, Produktionsparameter waren 2 Zyklen bei 150 bar,

(Raumtemperatur). Der PCS-Durchmesser der Nanopartikeldispersion betrug 123 nm, der Polydispersitätsindex 0,185. In Übereinstimmung waren damit der LD-Durchmesser D50% von 139 nm und der D99% von 149 nm.

#### Beispiel 5

10 % Traganth wurde in Miglyol 812 unter Zusatz von 1 % Span 80 dispergiert und Mikropartikel wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt. Der mit Lichtmikroskopie bestimmte mittlere Durchmesser betrug nach 10 Zyklen bei 1500 bar 7,54 µm.

#### Beispiel 6

Es wurden zwei Mikropartikeldispersionen analog zu Beispiel 1 hergestellt, Herstellungsparameter waren 2 Zyklen mit 150 bar, 2 Zyklen mit 500 bar und 4 Zyklen bei 1500 bar. Die eine Dispersion war wasserfrei (0% Wasser), die zweite enthielt 1,0 % Wasser. Die Durchmesser waren jeweils 1,9 µm und 2,1 µm (D50%), und 4,9 µm und 5,4 µm (D90%).

#### Beispiel 7

Es wurden zwei Mikropartikeldispersionen analog zu Beispiel 6 hergestellt. Die eine Dispersion enthielt 10 % Wasser, die zweite enthielt 30 % Wasser. Die Durchmesser waren jeweils 1,7 µm und 1,7 µm (D50%), und 4,1 µm und 4,2 µm (D90%).

#### Beispiel 8

Es wurde eine Mikropartikeldispersion analog zu Beispiel 7 hergestellt (4 Zyklen mit 1500 bar), der Wassergehalt jedoch auf 50% erhöht. Die Durchmesser D50% mit 1,5 µm und D90% mit 3,7 µm blieben trotz steigenden Wassergehalts im Vergleich zu Beispiel 7 praktisch unverändert.

#### Beispiel 9

Bestimmung des Einflusses eines Weichmachers auf das Homogenisationsergebnis: Es wurden unter Führen zwei Ethylcellulose (20 cP)-Dispersionen hergestellt. Die Zusammensetzung der Weich-



macher-freien Dispersion war: 10,0 % Ethylcellulose, 1,18 % Ölsäure, 0,24% Natronlauge und Wasser auf 100%. Die Weichmacher-haltige Dispersion enthielt zusätzlich 1,74% Dibutylsebacat. Homogenisation erfolgte bei 85° C, Homogenisationsparameter waren 2 Zyklen bei 150 bar, 2 Zyklen bei 500 bar und anschließend variierende Zyklenzahlen bei 1500 bar. Es wurden jeweils fünf Mikropartikeldispersionen mit 2, 4, 6, 8 und 10 Zyklen bei 1500 bar hergestellt und die Durchmesser 50%, 90% und 95% bestimmt (Abbildung 1). Die Durchmesser der erfindungsgemäßen Weichmacher-freien Dispersion liegen deutlich niedriger, das heißt Weichmacher-Zusatz fördert nicht die Dispergierfähigkeit des Polymers.

#### Beispiel 10

Bestimmung des Einflusses der Temperatur auf das Homogenisationsergebnis: Es wurden Weichmacher-freie Ethylcellulose-Dispersionen bei unterschiedlicher Temperatur homogenisiert. Die Zusammensetzung war identisch zu Beispiel 9, Homogenisationsparameter waren 2 Zyklen bei 150 bar, 2 Zyklen bei 500 bar und 10 Zyklen bei 1500 bar, Produktionstemperaturen der vier Formulierungen waren 20°, 40°, 60° und 85° C. Die Durchmesser 50%, 90% und 95% wurden mit Laserdiffraktometrie bestimmt (Abbildung 2) und ändern sich mit der Temperatur nicht.

#### Beispiel 11

Bestimmung des Einflusses eines Weichmachers auf das Homogenisationsergebnis bei niedriger Temperatur: Es wurden zwei Ethylcellulose-Dispersionen identisch zu Beispiel 9 hergestellt (Weichmacher-freie Dispersion, Weichmacher-haltige Dispersion). Die Homogenisation erfolgte jeweils bei 20° C und 40°C, Homogenisationsparameter waren 2 Zyklen bei 150 bar, 2 Zyklen bei 500 bar und 10 Zyklen bei 1500 bar. Es wurden jeweils fünf Mikropartikeldispersionen mit 2, 4, 6, 8 und 10 Zyklen bei 1500 bar hergestellt und die Durchmesser 50%, 90% und 95% bestimmt (Abbildung 3). Die Durchmesser der erfindungsgemäßen Weichmacher-freien Dispersion liegen deutlich niedriger, das heißt Weichmacher-Zusatz behindert die Dispergierfähigkeit.

### Beispiel 12

Die Substanz Azodicarbonamid (ADA) (10%) wurde unter Zusatz von Tween 80 (0,5%) in Polyethylenglycol 400 (PEG 400) unter Rühren dispergiert. Die Mikropartikel-Dispersion wurde wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt. Produktionsparameter waren 2 Zyklen bei 150 bar, 2 Zyklen bei 500 bar und anschließend 4 Zyklen bei 1500 bar. Der Durchmesser 50% betrug 3,0 µm, der D90% 6,2 µm und der D95% 7,2 µm.

### Beispiel 13

Verringerung des Anteils an Mikropartikeln mit einer Größe deutlich oberhalb des Durchmessers 50%: Der Arzneistoff wurde analog den Beispielen 6 bis 8 in Dispersionsmedien mit 0% Wasser (Glycerol) 10%, 30%, 50% Wasser (Glycerol-Wasser Mischungen) und in 100% Wasser dispergiert (Zusammensetzung identisch zu Beispielen 6-8). Homogenisation erfolgte wie in den Beispielen 6-8, aber mit 10 Zyklen bei 1500 bar. Der D50% zeigte wenig Änderung, der Durchmesser 95% sank von 3,9 µm (in 0% Wasser, d.h. reines Glycerol) auf 2,8 µm in reinem Wasser (Differenz ca. 1,1 µm).

Alternativ kann dieser Effekt auch in wasserfreien Medien durch einfache Erhöhung der Zahl der Homogenisationszyklen erzielt werden. In reinem Glycerol (0% Wasser) sinkt der D95% von 7,0 µm (nach 2 Zyklen bei 1500 bar) auf 3,9 µm (nach 10 Zyklen), d.h. Differenz ca. 3,1 µm.

### Beispiel 14

Herstellung einer Klinikcharge unter Sauerstoff-armen Bedingungen und Schutzbegasung: Azodicarbonamid (1%) wurde unter Zusatz von Tween 80 (0,2%) analog zu Beispiel 12 in 2 kg Propylenklykol dispergiert und mit einem Micron LAB 60 (APV Deutschland GmbH, Lübeck, Germany) im Umlaufverfahren 30 Minuten homogenisiert (Homogenisationsdruck: 700 bar, Raumtemperatur). Propylenklykol wurde vorher durch Erhitzen entgast. Der Produktcontainer wurde unter Stickstoff gehalten. Der mit Lichtmikroskopie bestimmte

mittlere Durchmesser betrug nach 30 Minuten Homogenisationszeit 5,45  $\mu\text{m}$ .

#### Beispiel 15

1% Cyclosporin wurde unter Zusatz von 1% Tween 80 in Propylenglycol unter Rühren mit einem Ultra-Turrax dispergiert (9500 rpm, 1 Minute) und dann im LAB 40 bei Raumtemperatur 2 Zyklen bei 150 bar homogenisiert. Der PCS-Durchmesser betrug 203 nm, der Polydispersitätsindex 0,132. Eine Erhöhung des Cyclosporin-Anteils auf 5% ergab Partikel mit 182 nm, PI 0,131. Die Partikel sind nach Herstellung, z.B. durch Zentrifugation, abzutrennen.

#### Beispiel 16

1 % PLA/GA (Resomer RG 504, Boehringer Ingelheim, Germany ) wurde unter Zusatz von 0,5 % Tween 80 in Propylenglykol unter Rühren dispergiert und dann in Micron LAB 40 2 Zyklen bei 100 bar und 8 Zyklen bei 150 bar homogenisiert. Der LD-Durchmesser 50% betrug 19,0  $\mu\text{m}$ .

#### Beispiel 17

1% medizinische Kohle wurde unter Zusatz von 1% Tween 80 mit Propylenglycol angerieben, anschließend mit einem Ultra-Turrax dispergiert (9500 rpm, 1 Minute) und dann unterhalb Raumtemperatur bei 4° C in einem LAB 40 homogenisiert. Produktionsparameter waren 2 Zyklen mit 150 bar, 2 Zyklen mit 500 bar und 5 Zyklen mit 1500 bar. Der Durchmesser 50% betrug 5,6  $\mu\text{m}$ , der D90% 13,5  $\mu\text{m}$  und der D95% 16,1  $\mu\text{m}$ . Eine zweite Charge identischer Zusammensetzung wurde bei -20° C homogenisiert. Der Durchmesser 50% betrug 5,5  $\mu\text{m}$ , der D90% 13,0  $\mu\text{m}$  und der D95% 15,3  $\mu\text{m}$ .

### Patentansprüche

1. Verfahren zur schonenden Herstellung von hochfeinen Mikro- und Nanopartikeln mit einer Partikelgröße (mittlerer Durchmesser der Anzahlverteilung) kleiner als 10  $\mu\text{m}$ , insbesondere kleiner als 5  $\mu\text{m}$  und bevorzugter kleiner als 1  $\mu\text{m}$ , dadurch gekennzeichnet, daß ein Matrixmaterial in einem wasserfreien oder wasserreduzierten Medium und/oder bei niedrigen Temperaturen unter 90 °C, vorzugsweise Raumtemperatur (20°C) und insbesondere unterhalb des Gefrierpunktes von Wasser, einem Hochdruckhomogenisationsprozeß unterworfen wird, der zu einer schonenden Partikelzerkleinerung führt unter Minimierung der Beeinträchtigung der chemischen Stabilität des homogenisierten Materials.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem homogenisierten Matrixmaterial um Arzneistoffe (pharmazeutische Wirkstoffe oder Veterinärarzneistoffe) oder um Wirkstoffe und/oder Hilfsstoffe und/oder Zusatzstoffe für Kosmetika, Agrarprodukte, Nahrungsmittel und konservierende Produkte handelt.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem homogenisierten Matrixmaterial um die Arzneistoffe Ciclosporin, Azodicarbonamid, Paclitaxel, Prednisolon, Carbamazepin, Taxol, Morphin, Diclofenac, Ibuprofen, Phenobarbital oder Cromoglicin handelt.
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem homogenisierten Matrixmaterial um synthetische, halbsynthetische oder natürliche Polymere, insbesondere natürliche Makromoleküle handelt.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem homogenisierten Matrixmaterial um synthetische Polymere, insbesondere um die Polymere Polylactid, Polygly-

colid, Polylactid/-glycolid-Copolymer, Polyorthoester, Polyhydroxybutyrat (PHB), Polyhydroxyvaleriat (PHV), Polyhydroxybutyrat/-valeriat-Copolymer, Polyacrylate, Polymethacrylate, Polyvinylderivate, Blockpolymere aus Polyethylenglycol und Polyestern, Polyhydroxybuttersäure, Polycyanoacrylate, Polycarbonate oder Polycaprolacton, handelt.

6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem homogenisierten Matrixmaterial um natürliche Makromoleküle, insbesondere Alginate, Albumin, bevorzugt Serumalbumin, Humanalbumin und bovines Albumin, Kollagen, Kasein, Fibrin, Tragant, Xanthane, Polysaccharide, insbesondere Chitin, Dextrane oder Hyaluronsäure handelt.
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem homogenisierten Matrixmaterial um mit Arznei- oder Wirkstoff beladenen Polymere oder natürliche Makromoleküle handelt.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem mit Arznei- oder Wirkstoff beladenem homogenisierten Matrixmaterial um die Polymere Polylactid, Polyglycolid, Polylactid/-glycolid-Copolymer, Polyorthoester, Polyhydroxybutyrat (PHB), Polyhydroxyvaleriat (PHV), Polyhydroxybutyrat/-valeriat-Copolymer handelt.
9. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem mit Arznei- oder Wirkstoff beladenem homogenisierten Matrixmaterial um natürliche Makromoleküle, insbesondere Alginate, Albumin, bevorzugt Serumalbumin, Humanalbumin und bovines Albumin, Kollagen, Kasein, Fibrin, Tragant, Xanthane, Polysaccharide, insbesondere Chitin, Dextrane oder Hyaluronsäure handelt.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem nichtwäßrigem oder wasserfreiem Dispersionsmedium dispergiert sind.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem öligen Medium, insbesondere mittelkettigen Triglyceriden (MCT), Erdnußöl, Rizinisöl, Baumwollsamensöl, Distelöl, langkettigen Triglyceriden (LCT), insbesondere Soyaöl, Triacetin oder Isopropylmyristat, dispergiert sind.
12. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in flüssigen Kohlenwasserstoffen, insbesondere dünnflüssigem Paraffin, dickflüssigem Paraffin, Hexan oder Octan, dispergiert sind.
13. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in Polyethylenglykolen (PEG), insbesondere PEG 100 bis PEG 1000, wasserfreiem Glycerol, wasserfreien Alkoholen, insbesondere Methanol, Ethanol, 1-Propanol, Isopropanol, n-Butanol, 2-Butanol, Pentanol, Hexanol, Octanol, Decanol, Allylalkohol, Propargylalkohol, Ethanol, Isopropanol und Butanol, oder Propylenglykolen dispergiert sind.
14. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in Dimethylsulfoxid dispergiert sind.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem Dispersionsmedium dispergiert sind, daß einen geringen oder minimierten oder produkttechnisch wünschenswerten Anteil an Wasser enthält.

16. Verfahren nach dem Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem Dispersionsmedium dispergiert sind, daß weniger als 5 Gew.%, insbesondere weniger als 1 Gew.% an Wasser enthält.
17. Verfahren nach dem Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem Dispersionsmedium dispergiert sind, daß weniger als 10 Gew.% an Wasser enthält.
18. Verfahren nach dem Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem Dispersionsmedium dispergiert sind, daß weniger als 50 Gew.% an Wasser enthält.
19. Verfahren nach dem Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem Dispersionsmedium dispergiert sind, daß weniger als 99 Gew.%, insbesondere weniger als 80 Gew.% an Wasser enthält.
20. Verfahren nach dem Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in einem Dispersionsmedium dispergiert sind, daß Wasser enthält, in dem weitere Substanzen gelöst sind, insbesondere Polymere, bevorzugt bei Raumtemperatur feste Polyethylenglykole, bevorzugt PEG 6000, oder Cellulosederivate, insbesondere Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC).
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 20, dadurch gekennzeichnet daß die zu zerkleinernden Materialien in ...
22. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Prozeßtemperatur oberhalb Raumtemperatur

(20°C) ist, vorzugsweise jedoch unter 50° C und insbesondere unter 30° C.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Prozeßtemperatur Raumtemperatur (20°C) ist, vorzugsweise darunter, insbesondere bei ca. 4° C.
24. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Prozeßtemperatur unterhalb des Gefrierpunktes des Wassers ist, vorzugsweise unter -20°C und insbesondere unter -50° C.
25. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Prozeßführung unter Ausschluß von Sauerstoff erfolgt, insbesondere unter Begasung mit inerten Gasen, bevorzugt Stickstoff oder Argon, oder unter Vakuum erfolgt.
26. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß beim Prozeß eingesetzte Dispersionsmedien vor Gebrauch entgast werden.
27. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß der Hochdruckhomogenisationsprozeß in einem Kolben-Spalt-Homogenisator erfolgt.
28. Verfahren nach einem der Ansprüchen 1 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß der Hochdruckhomogenisationsprozeß in einem Jet Stream-Homogenisator erfolgt, insbesondere einem Microfluidizer.
27. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß der Homogenisationsprozeß in einem Rotor-Stator-Homogenisator mit hoher Leistungsdichte erfolgt.



28. Hochfeine Mikro- oder Nanopartikel-Dispersionen herstellbar nach dem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 27.

Abb. 1:

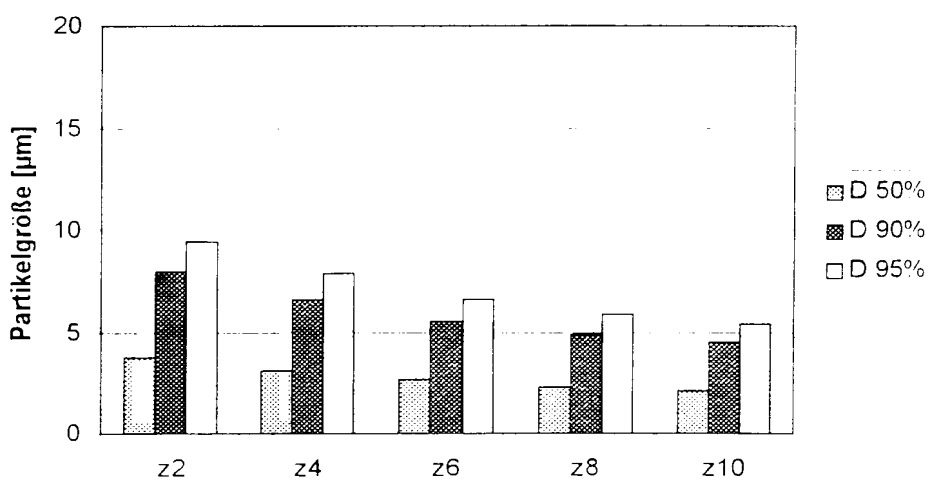
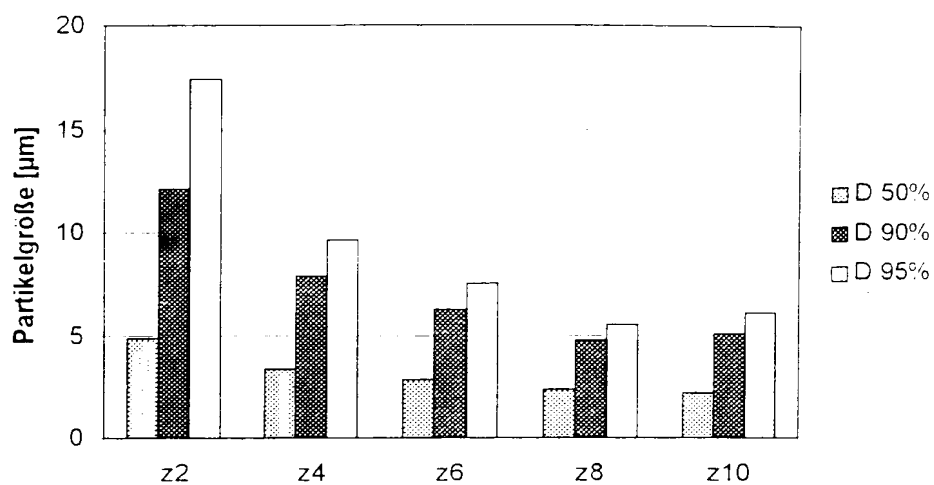


Abb. 2:

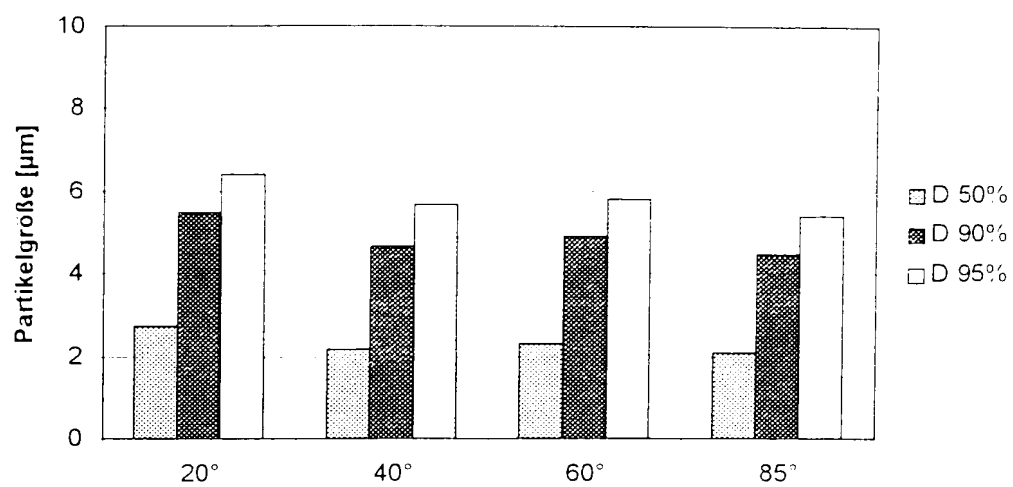


Abb. 3:

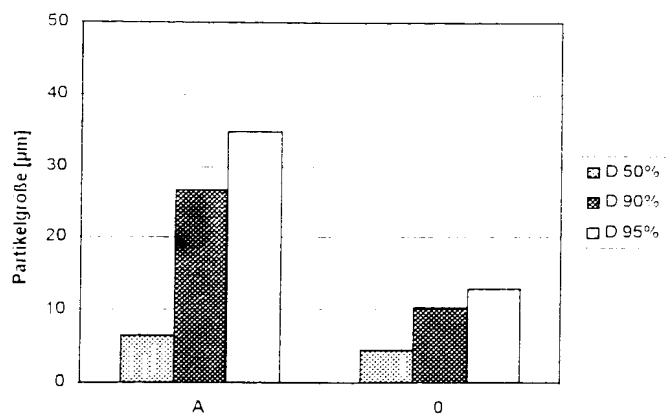
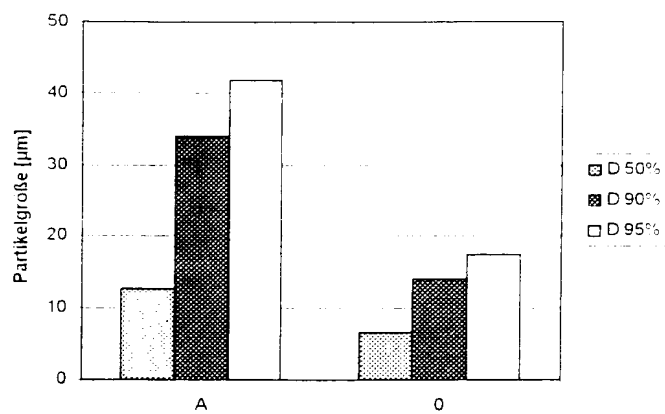
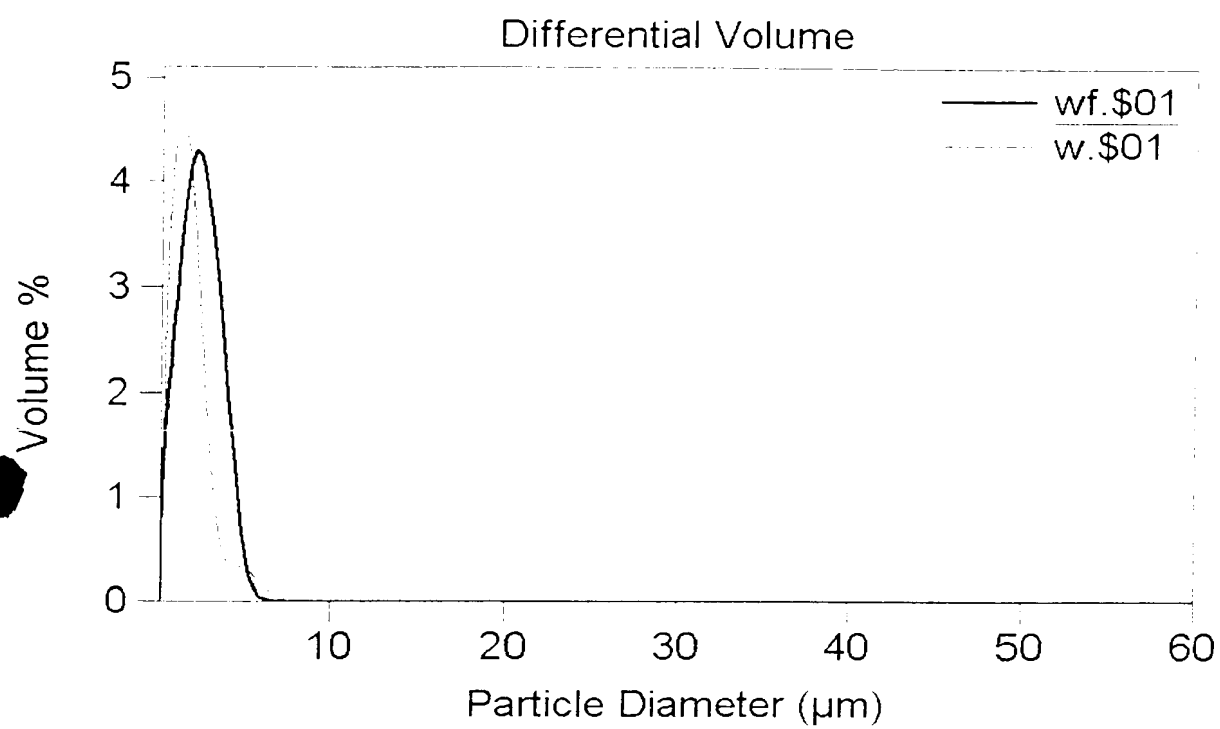


Abb. 4:



### Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft hochfeine Mikropartikel und Nanopartikel und ein Verfahren zu ihrer schonenden Herstellung unter Ausschluß von Wasser bzw. Minimierung von Wasser und/oder Ausschluß von Weichmachern und/oder reduzierter Temperaturbelastung, bei dem ein Matrixmaterial in einem wasserfreien oder wasserarmen Medium und/oder bei niedrigen Temperaturen, vorzugsweise Raumtemperatur (20°C) und insbesondere unterhalb des Gefrierpunktes von Wasser, einem Hochdruckhomogenisationsprozeß unterworfen wird, der zu einer schonenden Partikelzerkleinerung führt unter Minimierung der Beeinträchtigung der chemischen Stabilität des homogenisierten Materials.